دراسة العلاقة بين البروتين الشحمي السكري Lipoprotein (a) والمستويات البلازمية لمستقبل المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة es RAGES

Study the relation between the lipoprotein(a) levels and the plasma levels of es RAGE in type II diabetic mellitus patients

الدكتور حسين الخطيب

قسم علوم الحياة

كلية طب الأسنان

الجامعة الوطنية الخاصة

الملخص

تم في هذه الدراسة قياس المستويات البلازمية للـ esRAGE عند مجموعتين من الأفراد: مجموعة مرضى مصابين بالداء السكري من النمط الثاني(35 فردا) ومجموعة شاهدة (25 فردا) باستخدام طريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA

لوحظ انخفاض يعتد به احصائيا ($P<0.05$) في متوسط تركيز esRAGE البلازمية لدى مجموعة الداء السكري مقارنة مع المجموعة الشاهدة . كما جرى تعيين قيم LP(a) لدى مجموعة الداء السكري نمط ٢ والمجموعة الشاهدة وكانت على النحو التالي: مجموعة الداء السكري 15.2 ± 7 mg /dl والمجموعة الشاهدة 2± 0.32 mg/dl

وبتطبيق اختبار T student لوحظ ارتفاع يعتد به احصائيا ($p<0.01$) في متوسط تركيز Lp(a) لدى مجموعة الداء السكري نمط 2 مقارنة مع المجموعة الشاهدة . و بدراسة علاقة الارتباط بين مستويات esRAGE ومستويات LP(a) لدى مجموعة الداء السكري نمط 2 وجدنا علاقة ارتباط عكسية يعتد بها احصائيا ($r=0.352$, $p< 0.01$) .

كلمات مفتاحية

الخضاب الغلوكوزي – المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة – البروتين الشحمي (a) – مستقبل المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة

Abstract

The plasma esRAGE levels were determined in two groups : 35 patients with type II diabetes mellitus versus 25 subjects as a control group , also Lp(a) levels of the two groups had been assayed and the results showed increased levels of plasma LP(a) in the diabetic group as compared with the control group . Correlation study was carried out between plasma esRAGE levels and LP(a) levels of the two groups . the results suggested significant reverse correlations between them.

المقدمة

ان ارتفاع مستويات الغلوكوز في الدم يؤدي إلى تشكيل مركبات كيميائية تعرف باسم المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة Advanced glycation end products (AGEs) وهي مركبات سامة تتشكل بإفراط مع التقدم بالسن (1) وتنتج عن سلسلة من التفاعلات الكيميائية المعقدة تدعى بتفاعل ميلارد Millard حيث يتفاعل الغلوكوز لا إنزيميا مع المجموعة الأمينية للبروتينات ليشكل أساس شيف ومن ثم المركبات الأميدورية ، يتبع ذلك بتفاعلات غير عكوسة تعطي المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة في الدم وفي كثير من الأنسجة. تساهم هذه المركبات السامة في تطور مضاعفات الداء السكري الوعائية عن طريق ارتباطها الى مستقبل سطح خلوي للمنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة Receptor for advanced glycation end products (ARGEs) مما يتسبب في إحداث إشارة خلوية تفضي بعد عدة تفاعلات كيميائية إلى تبدلات ظاهرية في العديد من الخلايا مثل الخلايا البطانية Endothelial cells وخلايا العضلات الملساء Smooth muscle cells والخلايا حول الشرينات Arterial Pericytes وخلايا مسراق الكبيبة الكلوي renal mesangial cells مؤديا إلى امراضيات اعتلال الشبكية السكري واعتلال الكلية السكري واعتلال الأوعية الكبيرة Macroangiopathies السكري (2-3). ينتمي (RAGE) إلى زمرة الغلوبولينات المناعية لجزيئات سطح الخلية وهو يتكون من قسم خارج خلوي يحتوي على منطقة غلوبولين مناعي من النمط V ومنطقتي غلوبولين مناعي من النمط C (4) ويدعى النمط مقطوع النهاية C بمستقبل المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة ذو الافراز الداخلي (esRAGE) (5) يملك هذا النمط المنطقة V التي تربط (AGEs) لكن ينقصه المنطقة عبر الغشائية لذلك فإن(esRAGE) يفرز إلى خارج الخلايا ويملك القدرة على تعديل أفعال AGEs فهو إذن محصن خلوي ضد تأثيرات AGEs (6-7). هناك معطيات كثيرة تشير إلى أن البروتين الشحمي السكري[(LP(a)] Lipoprotein (a) هو عامل إخطار رئيسي في الأمراض الوعائية القلبية (8-9). لقد تم التعرف على هذا البروتين الشحمي السكري LP(a) لأول مرة واعتبر صنف متميز ومستقل من مجموعة البروتينات الشحمية من قبل العالم Bergعام ١٩٦٣(10) . يتميز هذا البروتين الشحمي المصلي بصفات غير عادية فهو يحتوي على بروتين سكري فريد[(apoprotein(a] مرتبط إلى الصميم apoprotein B-100 بواسطة روابط ثنائية الكبريت ، هذا وإن الشكل المختزل لـ LP(a) مماثل فعليا للبروتين الشحمي منخفض الكثافة (LDL) في خصائصه الفيزيائية والكيميائية وقبطه من قبل مستقبلات(LDL) على خلايا الأرومات الليفية الانسانية في المزرعة . لكن الشكل الطبيعي لـ LP(a) ضعيف الارتباط بمستقبلات LDL ولا يتأثر بالحميات الغذائية والأدوية التي تعدل عادة مستوى LDL في الدم (11). لقد وجد أن تسلسل الأحماض الأمينية في صميم بروتين[(a) apoprotein] (a) يشبه لحد كبير (85%) تلك الموجودة في مولد البلاسمين (Plasminogen) وقد دفع هذا التشابه الكبير واللافت للنظر بين هذين البروتينين الباحثين إلى الاعتقاد بأن ارتفاع اخطار الاصابة بتصلب الشرايين المبكر والامراض الخثارية المترافقة بزيادة مستويات(Lp(a المصلية يعود في الحقيقة إلى المحاكاة (التشابه الكبير) بين هذين البروتينين (18) .

هدف البحث :

قياس المستويات البلازمية لكل من المستقبل esRAGE والبروتين الشحمي السكري Lp(a) في المجموعات المرضية والسليمة ومن ثم البحث عن علاقة بينهما

المواد والطرق Materials and Methods

جمعت العينات من مراجعي مركز العيادات الشاملة التابع لمديرية صحة حماة كما جرى جمع عينات المجموعة الشاهدة من متطوعين
أصحاء لا يراجعون أي مركز صحي . أجريت الدراسة على 60 فردا مقسومين إلى مجموعتين :
المجموعة الأولى : هي مجموعة المتطوعين الأصحاء وعددهم 25 فردا (14 ذكرا و 11 أنثى) لا يعانون من السمنة أو الداء السكري ولا يتناولون أية أدوية ، متوسط أعمارهم 42 ± 9 عاما وكانت قيم BMI 23.2 ± 3.1 كغ /م² .

المجموعة الثانية : هي مجموعة مرضى الداء السكري من النمط الثاني وتضم 35 مريضا (19 ذكرا و 16 أنثى) يتناولون أحد خافضات السكر الفموية على الأقل . قطفت عينات الدم على الريق بعد صيام ليلة كاملة في الفترة ما بين الساعة الثامنة والعاشرة صباحا وقد جرى الاعتيان على النحو التالي :

عينات المصل : بزل 5 مل دم وريدي في أنبوب جاف وتم التنبيذ مباشرة (3000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق)ووزع المصل الناتج ضمن ثلاثة أنابيب إيندورف . حفظت العينات عند الدرجة −20 درجة مئوية إلى حين إجراء المقايسة . استخدمت القسيمة

الأولى لكل عينة لمقايسة esRage بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA بواسطة عتيدة لشركة Phoenix Pharmaceutical الأمريكية . واستخدمت القسيمة الثانية لمقايسة LP(a) بطريقة ELISA باستعمال عتيدة من شركة Hyphen Biomed الفرنسية . والقسيمة الثالثة لمقايسة الغلوكوز بالطريقة الأنزيمية (Glocose GOD PAP)

عينات الدم الكامل : وضع 1.5 مل دم وريدي في أنبوب يحوي مضاد تخثر EDTA وقد جرى استخدامها لمقايسة الهيموغلوبين السكري (HbA1C) **بطريقة الاستشراب على العمود متبادل الأيونات لشركة هيومان الألمانية .**

تم التعبير عن القيم المختلفة بحساب المتوسطات الحسابية X والانحراف المعياري SD كما اعتمد T student لتحديد فيما إذا كان الفارق بين المتوسطات الحسابية معتد بها احصائيا كما اعتمد اختبار PEARSON لدراسة علاقة الارتباط بين المتثابتات

النتائج RESULTS

تمت مقايسة المستويات البلازمية للـ esRAGE لدى مجموعات الدراسة و كانت النتائج على النحو التالي:

المجموعة الشاهدة 0.13 ± 0.39 ng/ml ، مجموعة مرضى الداء السكري نمط (2) 0.27±0.07 ng/ml و بتطبيق اختبار T student لوحظ انخفاض يعتد به احصائيا ($P<0.05$) في متوسط تراكيز esRAGE البلازمية لدى مجموعة الداء السكري مقارنة مع المجموعة الشاهدة . و كانت قيم الهيموغلوبين السكري لدى المجموعة الشاهدة 5.23±0.63%

ومجموعة الداء السكري نمط (2)

7.68± 0.8% وبتطبيق اختبار T student لوحظ وجود ارتفاع يعتد به احصائيا في متوسط قيم HbA1c لدى مجموعة الداء

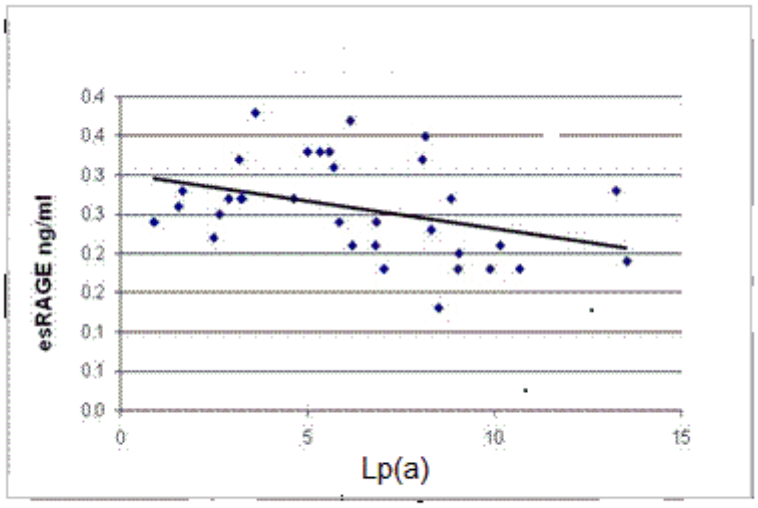
السكري مقارنة مع المجموعة الشاهدة. وكانت قيم Lp(a) لدى مجموعة الداء السكري نمط (2) 15.2± 7 mg/dl و لدى المجموعة

الشاهدة 2±0.32 و بتطبيق اختبار T student لوحظ ارتفاع يعتد به احصائيا (P<0.01) في متوسط تركيز Lp(a) لدى مجموعة

الداء السكري نمط (2) مقارنة مع المجموعة الشاهدة .

وبدراسة علاقة الارتباط بين مستويات esRAGE ومستويات Lp(a) لدى مجموعة مرضى الداء السكري نمط(2) لاحظنا وجود

علاقة ارتباط عكسية يعتد بها إحصائيا حيث كانت قيمة معامل الارتباط r=−0352 و P<0.01 الشكل رقم (1)



الشكل 1: علاقة الارتباط بين esRAGE وLP(a) لدى مرضى الداء السكري 2

المناقشة Discussion

وجدنا في هذه الدراسة انخفاضا واضحا في المستويات البلازمية للـ esRAGE لدى مرضى الداء السكري من النمط الثاني مقارنة مع المجموعة الشاهدة (السليمة). قد يعود هذا الانخفاض إلى ارتفاع مستويات الغلوكوز لدى المرضى السكريين والذي هو المصدر الاساسي لتشكيل المنتجات النهائية للغلكزة المتقدمة وبالتالي ازدياد ارتباطه مع الـ esRAGE مما يؤدي إلى انخفاض مستويات هذا الأخير. إن ارتفاع الغلوكوز الدموي قد يثبط إفراز esRAGE إما مباشرة أو بزيادة إفراز السيتوكينات التي قد تؤدي إلى زيادة إفراز AGEs وبالتالي إلى زيادة ارتباطه مع مستقبله الذواب مما يؤدي إلى تراجع قيم هذا الأخير. بالمقابل فإن انخفاض مستويات esRAGE قد تعود إلى زيادة تصفية المعقد AGEs–esRAGE . يتوافق هذا مع دراسة K.M. Choi وزملائه عام ٢٠٠٩ (13) ٠ كما وجدنا في هذه الدراسة علاقة ارتباط عكسي يعتد به إحصائيا بين esRAGE والبروتين الشحمي السكري LP(a). هذه العلاقة تعزز الاستنتاج بأن هناك تظافر لعوامل متعددة استقلابية ووراثية تؤدي إلى اعتلال الصحة وارتفاع معدل الوفيات بين مرضى الداء السكري (6). فالبروتين الشحمي

السكري LP(a) يتدخل في وظيفة مولد البلاسمين Plasminogen معيقا بذلك حل الجلطة الليفية (fibrinolysis) وهذا يزيد من حوادث التخثر (15-14) كما أن الدراسات أظهرت بأن التصلب العصيدي المعبر عنه بنسبة الانسداد الشرياني المحيطي يترافق بقوة مع LP(a) عند مرضى الداء السكري بنوعيه (16) وكذلك يلعب دورا محرضا في تطور اختلاطات القدم السكرية (17). إن النتائج التي حصلنا عليها تفتح المجال أمام دراسات أعمق على المستوى الجزيئي لفهم آلية تظافر تأثير AGEs و LP(a) في إحداث الأذيات الوعائية التي تقود إلى اعتلالات متنوعة تطال الكثير من أعضاء الجسم.

المراجع

References:

1-M Takeuchi;Y. Yanase Y; Matsuura;S. Yamagichi;Y. Kameda; R. Bucala. Et al Immunological detection of a novel advanced glycation end- product.Mol.Med.318:1315-1321,1988

2- Brownlee M; Cerami A. and Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications.
N Engl J Med 318:1315-1321, 1988

3 - Stern DM; Yan SD; Yan SF.and Schmidt AM. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the complication of diabetes. Ageing Res. Rev. 1: 1-15, 2002

4- Schmidt AM; Hasu M; Popov D; Zhang JH; Chen J; Yan SD; Brett J Cao R; Kuwabara K, and costache G. Receptor for advanced glycation end products (AGEs) has a central role in vessel wall interactions and gene activation in response to circulating AGE proteins. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 91:8807-8811. 1994

5- Neeper M; Schmidt AM; Brett J; Yan SD; Wang F; Pan YC; Elliston K; Stern D and Shaw A. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. J. Biol. Chem. 267: 14998-1415004, 1992.

6 - Yonekura H; Yamamoto Y; Sakurai S; Watanabe T. and Yamamoto H. Roles of the receptor for advanced glycation endproducts in diabetes-induced vascular injury.
J. Pharmacol. Sci; 97: 305-311. 2005.

7-Katakami N. et al .
Endogenous Secretory Receptor for Advanced Glycation End Poduct levels Are Invorsely Associated with HbA1c in type 2 diabetic Patients .
Diabetes care : 3206- 3209 ,2006

8- Kannel WB, McGee DL. Diabetes and Cardiovascular Risk Factors- The Framingham Study. Circulation 1979;59:8-13

9- Mota, Ana Paula Lucas. Lipoprotein(a) in patients with peripheral arterial obstructive disease and I or type 2 diabtes mellitus. J Bras Patol Med Lab 2008;44:89-95
10- Berg K. A new serum type systems in man – the Lab system.
Acta Pathol Microbiol Scand 1963;59:369-82.
11- Armstrong VW, Cremer P, Eberle E, Manke A, Schulze F, Wieland H, et al.The association between serum Lp(a) concentrations and angiographically assessed coronary atherosclerosis: dependence on serum LDL levels.
Atherosclerosis: 1986;62:249-57.
12- miles LA and Plow EF . Lp(a): An Interloper into the Fibrinolytic system. Thromb Haemost 1990 ,63:331-5.
13- Choi KM. et al. Association between endogenous secretory RAGE, inflammatory markers and arterial stiffness. Int. J Cardiol. 132: 96-101, 2009
14- Edelberg JM, Gonzalez-Cronow M, Pizzo SV. Lipoprotein(a) inhibition of plasminogen activation by tissue-type plasminogen activator.
Thromb Res 1990;57:155-62
15- Miles LA, Fless GM, Levin EG, Scano AM, Plow EF. A potential basis for the thrombotic risks associated with lipoprotein(a). Nature 1989;339:301-3
16- Wollesen F, Dahlen G, Berglund L, Berne C. Peripheral atherosclerosis and serum lipoprotein(a) in diabetes. Diabetes Care 1999;22:93-8
17- Unluhizaraci K, Muhtaraglu S, Kabak S, Bayram F, Kelestimur F. Serum lipoprotein(a) levels in patients with diabetic foot lesions.
Diab. Res and Clin Pract. 2006;71:119-23.